

砂ネズミにおける実験的脳梗塞

—局所脳血流量と虚血症状の検討—

金沢大学医学部脳神経外科学講座 (主任：山本信二郎教授)

吉 田 一 彦

(昭和62年10月19日受付)

本実験は脳梗塞発症後の両側半球の大脳皮質局所血流量 (regional cerebral blood flow, r-CBF) の経時的変化と脳虚血症状の推移および両者の経時的な相互関係について検討した。大脳動脈輪形成不全を特徴とする砂ネズミ (Mongolian gerbil) を対象に、水素クリアランス法により r-CBF を測定した。ペントバルビタール麻酔下、10 匹の動物のコントロール実験における冠状縫合に接した前後の皮質の r-CBF は、 19.76 ± 1.37 ml/100 g/min (mean \pm S.E.) であった。一側総頸動脈結紮後の脳虚血症状について、おのおのの症状を数値に対応させ、それを加算する Stroke Index (S.I.; 0~31) を作成し評価した。結紮を行なった 40 匹のうち、症状が軽く生存したものは 21 匹で、これら生存群の 60 分以内の S.I. はいずれも 10 点未満であった。残りの 19 匹は 60 分以内かなりの脳虚血症状を呈し、8~56 時間で全例死亡した。これら致死群の 60 分以内の S.I. は 10 点以上であり次第に数値を増した。生存群の r-CBF は、結紮側で 1 時間以内の値は、 12.34 ± 1.35 ml/100 g/min、6 時間では 17.71 ± 2.17 ml/100 g/min であり、対側では、それぞれ 16.58 ± 1.55 ml/100 g/min および 17.54 ± 2.30 ml/100 g/min であった。これに対し、致死群の r-CBF は結紮側で 1 時間以内の値は 9.19 ± 1.72 ml/100 g/min、6 時間では 8.16 ± 1.18 ml/100 g/min であり、対側ではそれぞれ 11.71 ± 1.11 ml/100 g/min および 15.32 ± 1.58 ml/100 g/min であった。すなわち、致死群における最も顕著な所見は、結紮側における血流低下の持続と共に、対側において後に回復するにも拘らず 1 時間以内に著明な脳血流低下を示すことであった。以上より、脳梗塞急性期において一側半球が重篤な脳虚血に陥ると一過性ながら対側半球にも虚血現象が生じ、致命的な経過をとるものと推定された。

Key words r-CBF, Mongolian gerbil, cerebral infarction, diaschisis, electrolytic hydrogen clearance method

脳梗塞急性期の症状は、単なる脳の虚血のみならず、二次的に発生する脳代謝の変化に伴う脳浮腫、あるいは脳出血の組み合わせによることが多く、従って局所の脳血流動態も時間と共に変化する。

哺乳動物では一般に脳血管に交通枝が発達しているため、脳虚血モデルの作製は困難である¹⁾²⁾。1966 年、Levine と Payan³⁾は、初めて大脳動脈輪形成不全を特徴とする砂ネズミ (Mongolian gerbil) を用いて、その一側総頸動脈結紮によって容易に、脳梗塞病変が発生することを発見した。しかし、この動物の一側総頸動脈結紮は必ずしも同一の症状を来すものではなく、その死亡率についても報告者により 30~60% にわ

たる差がある。

本実験では、虚血モデルとして砂ネズミを用い一側総頸動脈結紮後の虚血症状の評価と、結紮側及び対側おのおのの局所脳血流量 (regional cerebral blood flow, r-CBF) を測定した。更に虚血症状と脳血流の経時的変化を観察し、これを検討した。

材料および方法

I. 使用動物

金沢大学医学部動物実験施設において繁殖、維持された体重 80~120 g の砂ネズミを用い、体重 100 g 当たり 3.0 mg のペントバルビタールの腹腔内投与で麻酔

Abbreviation: r-CBF, regional cerebral blood flow; S.I., Stroke Index.

した。

II. r-CBF 測定方法

水素クリアランス法によって求めた。この方法には、水素吸入後のクリアランスより求めるもの⁴⁾⁵⁾ (吸入法)と、電気分解によって脳局所に水素ガスを発生させ、そのクリアランスより求めるもの^{6)~8)} (電気分解法)の二者がある。まず、吸入法及び電気分解法によりそれぞれ r-CBF を求め、その後両者の比較検討を行った。操作が容易なことより、脳梗塞砂ネズミの実験では、電気分解法を用いて r-CBF を測定した。

電極は、図 1 に示す如く、テフロンコーティングした各々直径 80μ の白金 (Pt) - イリジウム (Ir) 線 (電極 A) および、白金線 (電極 B) を、エポキシコーティングをしてはりあわせ、外径 450μ 、内径 230μ のステンレスチューブに挿入し、チューブ内をエポキシ樹脂で充填した。微粒子サンドペーパーを用いて、チューブの先端を約 30 度の角度に研磨し、電極を露出した。動物の冠状縫合の、吻側ならびに尾側 2mm に、左右対称に正中より 2mm の位置に、小孔を歯科用デンタルドリルであけ、硬膜を切開した。電極を、脳表より 1.0

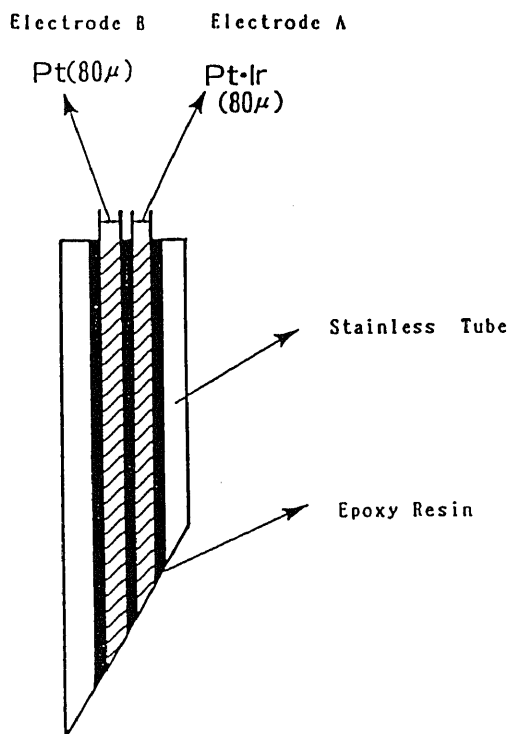


Fig. 1. Schematic presentation of the bipolar electrode.

The outer diameter of the stainless tube is 450μ and the inner diameter is 230μ .

mm の深さに、直視下でマイクロマニピレーターを用いて挿入した。一方、2 個の皿型銀塩化銀電極 (Ag-AgCl) を両側臀部皮下に埋めこみ、不関電極とした (図 2)。

1) 吸入法

動物を軽く拘束して、口元より一定の距離を保ったマスクより、約 5 分間約 5% の水素ガスを自発呼吸下で吸入させた後、不関電極と電極 A の間のポーラロ電流の変化をポーラロ電流記録計 TI102 (東海医理科) を用いて記録した。水素ガス濃度は、水素ガス濃度測定装置 PHG-300 (東海医理科) を用いて測定した。得られたクリアランスカーブを片対数のグラフ用紙にプロットし、その直線より半減期 ($T_{1/2}$; 単位, min.) を求め、monoexponential curve の場合次式より r-CBF を算出した (図 3)。

$$r\text{-CBF} = \lambda \times \frac{69.3}{T_{1/2}} \text{ (ml/100 g/min)}$$

但し λ : 血液/組織の水素ガスの分配係数。

$$\lambda = 1 \text{ (Aukland)}^{4)}$$

また biexponential curve の場合、fast component, slow component のそれぞれより $T_{1/2}$ を求め、上記の式より F-fast (F_f), F-slow (F_s) を求めこれらの値より算出された r-CBF を求めた (図 4)。

$$r\text{-CBF} = \frac{\frac{I_f}{F_f} + \frac{I_s}{F_s}}{\frac{I_f}{F_f} + \frac{I_s}{F_s}} \text{ (ml/100g/min)}$$

但し I_f , fast component の直線と対数目盛との交点の目盛

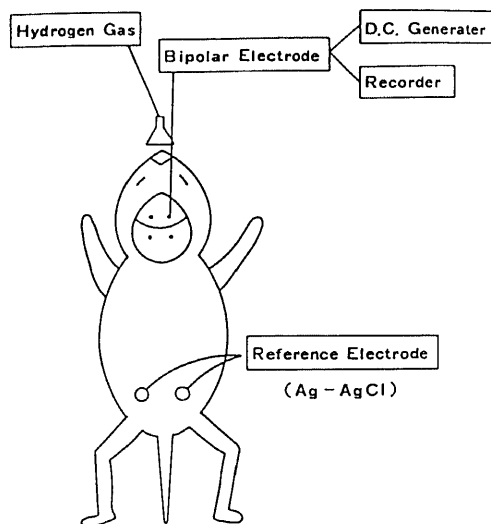


Fig. 2. Measuring method of cerebral blood flow of the gerbil.

I_s , slow component の直線と対数目盛との交点の目盛

2) 電気分解法

Koshu ら⁷⁾の実験に準じ、電極 A は水素濃度測定用に、電極 B は水素ガス発生用に用いた。後者を陰極として、不関電極の一つとの間に、定電流発生装置 M301 (WPI 社) を用いて $100 \mu A$ を 5 秒間通電し、電極 B に水素ガスを発生させた直後の電極 A と、他の不関電極との間における、水素ガスの拡散による電位変化を記録した。本法による水素ガス濃度の変化は、血流のみならず、ガスの拡散による値も加算される。従ってコントロール実験として、動物に塩化カリウム液 3.0 ml を心室に注射して心停止させた後、同じ装置を用い同一部位に電極を挿入して、心停止状態における水素ガス変化量を生存中における拡散のみによる変化量と等

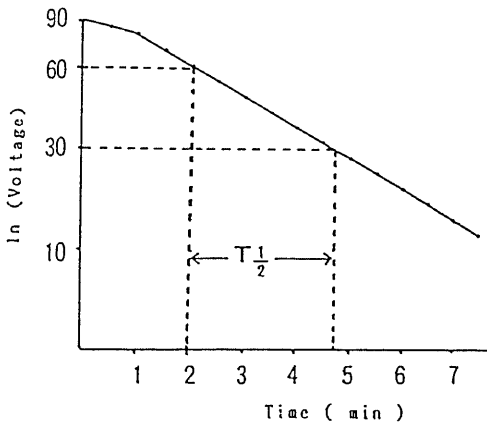


Fig. 3. Calculation method for blood flow on monoexponential curve.

$T_{1/2}$, half-time of decay taken from the hydrogen clearance curve.

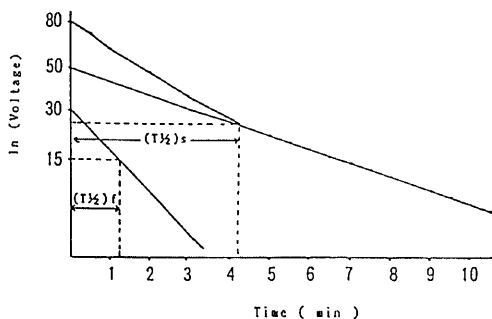


Fig. 4. Calculation method for blood flow on biexponential curve.

$(T_{1/2})_f$, half-time of decay for fast component
 $(T_{1/2})_s$, half-time of decay for slow component.

しいものと、仮定した。Koshu らの計算方法に従い、生存中及び心停止状態で得られた水素濃度の変化のグラフから両者の半減期を求め下記の計算式より r -CBF を求めた。

$$r\text{-CBF} = \ln 2 \times 100 (=69.3) \times \left(-\frac{1}{T_c} - \frac{1}{T_d} \right) \quad (\text{ml}/100 \text{ g}/\text{min})$$

但し T_c , 血流のある状態即ち生存中に測定した水素クリアランスカーブを片対数グラフにプロットした時の半減期

T_d , 血流のない状態即ち心停止後に得られた水素クリアランスカーブを片対数グラフにプロットした時の半減期

III. 脳梗塞砂ネズミの作製

動物は体重 80~120 g の砂ネズミ (Mongolian gerbil) 40 匹を雌雄の区別なく用いた。室温を $25 \pm 2^\circ \text{C}$ に保ち、動物に体重 100 g 当り 3.0 mg のペントバルビタール腹腔内麻酔を施し、背臥位に固定した。腹側頸部を正中線上で皮膚切開した後、左総頸動脈を露出し、手術用縫糸 (5-0 ナイロン糸) で 2 ケ所を結紮し、その間を切離した。動物の固定から、結紮終了までの所要時間は 5 分以内とした。次いで動物を腹臥位にし、電気メスを用いて、前頭頭頂部の皮膚を正中切開し、歯科用ドリルで、冠状縫合より吻側 2 mm に、左右対称に正中より 2 mm の位置に、2 個の小孔をあけた。マウス固定装置を用いて、マイクロマニピュレーターにより電極を直視下に、脳表より 1 mm の深さに挿入した。結紮後 60 分以内に、結紮側、及び対側の r -CBF を測定した。その直後、動物を固定より解放してケージに移し、結紮後 1 時間の時点から経時的に、綿密に虚血症状の観察を行なった。動物は約 1 時間で麻酔から回復するが、その時点で既に種々の程度の虚血症状を呈した。

IV. Stroke Index (S.I.)

本実験では、McGraw⁹⁾の方法を若干修正し、Stroke Index (S.I.) を作成した。すなわち、体毛の逆立ちや振戦、1；攻撃反応の消失、1；運動減少、1；頭部の挙上、3；閉眼不能、3；眼瞼下垂、2；後脚の伸展、3；後脚の極度の回転、3；異常回旋運動、3；痙攣、2；回転性痙攣、3；昏睡様現象、6 とし、これらすべての現象が観察されれば、S.I. は 31 となる。結紮 6 時間で、動物の S.I. を評価した直後、体重 100 g 当り 3.0 mg のペントバルビタールの腹腔内投与を行ない、上述の如く動物を再び固定して、結紮側、及び対側の r -CBF を測定した。その後、皮膚切開創を縫合し、閉鎖した。この後も、経時的に各動物が呈する虚血症状を観察し、S.I. で表わした。これら実験中、

動物はすべて自発呼吸をし、10匹について大腿動脈血液ガス分析により $p\text{CO}_2$ は 45.2 ± 1.1 mmHg (mean \pm S.D. 以下同様) $p\text{O}_2$ は 83.2 ± 2.3 mmHg であった。同動脈にカニューレーションしたトランスデューサーによる平均血圧は 83.6 ± 6.1 mmHg であった。

V. 統計処理

得られた r-CBF 値の相関および回帰分析には、Pearson の積率相関係数および直線回帰方程式を求めた。2群間の平均値の差の検定には Student-t 検定を、3群間の平均値の差の検定には分散分析後、Duncan の多重比較法を行なった。危険率 $p < 0.05$ を有意とした。

成 績

I. r-CBF 測定における吸入法と電気分解法との比較

図5に示す如く動物の同一部位において、吸入法で得られた値と、電気分解法で得られた値とを比較した。吸入法では、 20.62 ± 0.95 ml/100 g/min (mean \pm S.E. 以下同様, $n=10$) であり、電気分解法では、 19.76 ± 1.37 ml/100 g/min ($n=10$) であった。両者の間には相関係数 $r=0.769$ ($p < 0.01$) の値が得られ、有意の相関を示した。また、これらの値は、前述の冠状縫合の吻側ならびに尾側の左右の4点において、認むべき差はなかった。従って、小孔を穿つにあたり、頭蓋骨か

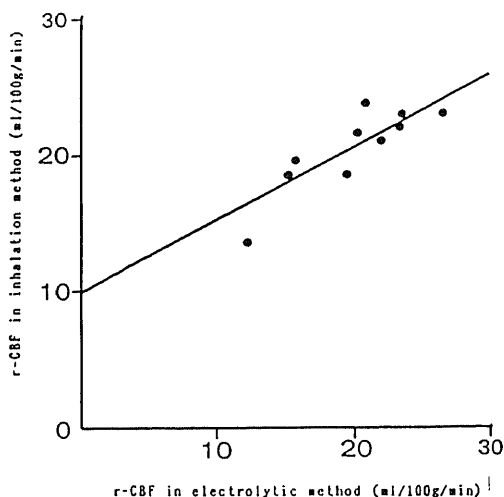


Fig. 5. Relationship between the r-CBF values in the electrolytic method and the inhalation method. There is high correlation between the two methods. The regression line is expressed by an equation $Y = 0.5286X + 10.1749$, and correlative coefficient (r) is 0.769 ($N=10$, $p < 0.01$).

らの出血が少ないことより、冠状縫合の吻側 2 mm に電極を刺入することを実験の原則とした。また、同一部位に電極の刺入を反復しても r-CBF の測定値に有意の差は認めなかった。電極の先端は、セロイジン封入による組織学的検索でいずれも皮質表面よりほぼ 1.0 mm に位置していることが確認され、刺入部位の出血は認められなかった。

II. 左総頸動脈結紮と S.I. の関係

本実験において、対象動物は左総頸動脈結紮の後、生存した群 (生存群) と、致命的経過を辿った群 (致死群) に大別できた。40 匹のうちの 21 匹は、生存群に属し S.I. はいずれの時期も 10 未満であった。そのうちの 1 匹は、全く虚血症状を認めなかった。残りの 20 匹については、虚血症状として最も多く認められたのは、結紮側の眼瞼下垂であり、結紮後 1 時間で固定より解放の時期に、全例に認められた。更にそのうちの 8 匹は、結紮側の後脚の伸展や回旋運動を合併し、S.I. が 5~8 を示したが、眼瞼下垂あるいは体毛の逆立ちを除く症状は、いずれも概ね 4 時間のうちに消失して全例生存し、最終的 S.I. は 2 となった。致死群に属する 19 匹については、S.I. は 1 時間で 10 以上を示した。これらのものの多くは、眼瞼下垂の他、体毛を逆立てての振戦、運動減少、閉眼不能、後脚の伸展、異常回旋および回旋運動、痙攣、攻撃反応の消失などの症状を加えて、結紮後概ね 4 時間で S.I. は 20 以上を示し、8~56 時間で死に至った。これらのうち 1 時間の S.I. が 10 ないし 11 のものは 3 例のみであり、いずれも数時間の経過で S.I. は増大した。

III. r-CBF の値と S.I. の関係

図6は、結紮後 1 時間以内の各動物の結紮側および対側の r-CBF と、結紮後 1 時間、即ち固定より解放された動物が麻酔よりほぼ回復した時点における S.I. との関係を示す。S.I. が 10 未満のものにおいては結紮側の r-CBF は、2.2~21.8 ml/100 g/min (以下 ml と略) 対側のそれは、8.1~25.6 ml であり、S.I. が 10 以上のものは結紮側の r-CBF は、2.9~16.0 ml、対側のそれは、4.9~16.0 ml の値に分散した。S.I. が 10 未満と 10 以上のものと比較すると、前者の r-CBF は後者のそれに比して、結紮側ならびに対側ともに大きい傾向を示すが、有意の相関は得られなかった。

表1は結紮後 1 時間以内の各動物の結紮側および対側の r-CBF 値を、これらの動物が最終的に辿った 2 群即ち生存群および致死群に分けて示す。結紮側では、生存群は 12.34 ± 1.35 ml、致死群は 9.19 ± 1.72 ml であり両者間には有意の差を認めなかった。これに対し、対側では生存群は 16.58 ± 1.55 ml、致死群は 11.72 ± 1.11 ml であり両者間には有意の差を認めた。即ち、結

紮後1時間以内の時点において、生存群に対し致死群では、対側において著明な血流低下を示した。

表2は結紮後6時間における各動物の結紮側および対側のr-CBF値を、生存群および致死群に分けて示

す。この時点では、ペントバルビタール腹腔内再投与にも拘らず麻酔に抵抗を示して固定が困難なことがあり、電極の損傷を来し、そのため信頼できるr-CBF値の得られた動物の数は約60%に減少した。結紮側で

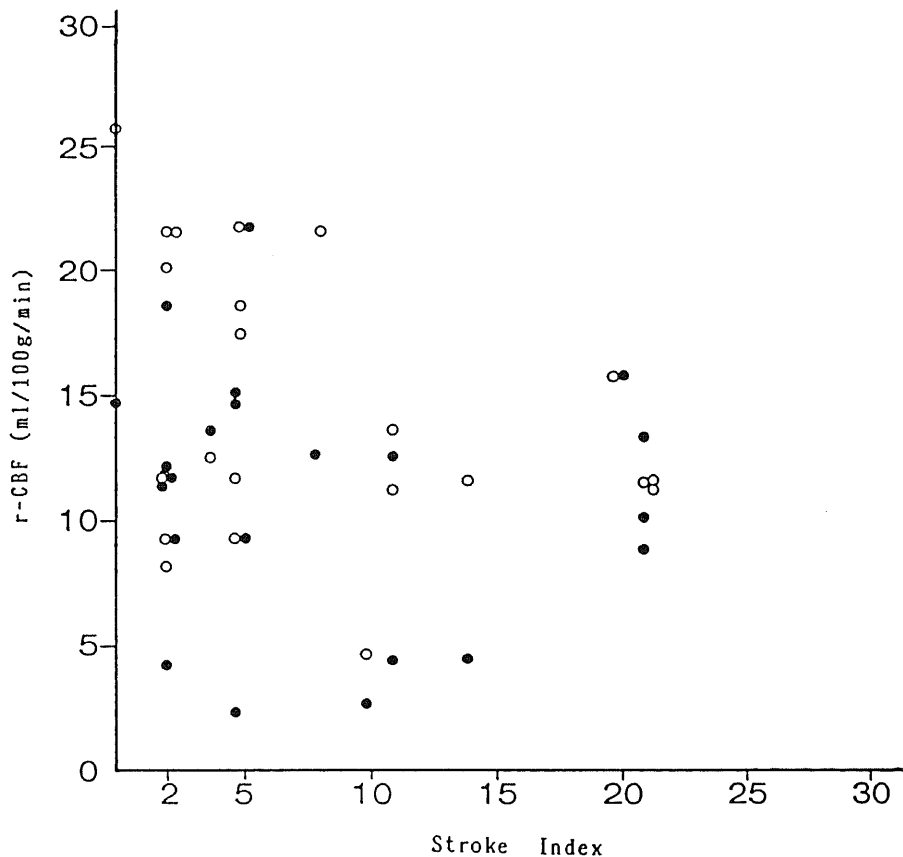


Fig. 6. Relationship between the r-CBF values within 1 hr after ligation and Stroke Index at 1 hr. The r-CBF values of animals manifesting a stroke index score greater than 10 are relatively lower than those of animals with a stroke index score less than 10. However, there is no significant relationship between r-CBF values and stroke index score.

●, occluded side; ○, contralateral side.

Table 1. r-CBF values of the occluded and the contralateral sides for the survived and the fatal groups within 1 hr after ligation

Side	r-CBF value (ml/100g/min, mean±S.E.)	
	Survived Group (14)	Fatal Group (8)
Occluded side	12.34±1.35	9.19±1.72
Contralateral Side	16.58±1.55	11.72±1.11(*)

Numbers in parentheses refer to the number of animals studied.

(*), Significantly different from the values of the survived group on the same side.

は、生存群は 17.71 ± 2.17 ml であるのに対し致死群では 8.16 ± 1.18 ml と血流は著しく減少した。これに対し、対側では生存群は 17.54 ± 2.30 ml、致死群では 15.32 ± 1.58 ml であり両者間には有意の差を認めなかった。

図7は生存群5例について、結紮後1時間以内（以後1時間値と略）及び6時間後（以後6時間値と略）の結紮側及び対側の r-CBF の変化を示す。結紮側では、1時間値は $11.8 \sim 21.8$ ml を示し、6時間値は3匹では2~9 ml 増加し2匹では1~2 ml の減少を示し

Table 2. r-CBF values of the occluded and the contralateral sides for the survived and the fatal groups at 6 hr after ligation

Side	r-CBF value (ml/100g/min, mean \pm S.E.)	
	Survived Group (5)	Fatal Group (7)
Occluded Side	17.71 ± 2.17	8.16 ± 1.18 (*)
Contralateral Side	17.54 ± 2.30	15.32 ± 1.58

Numbers in parentheses refer to the number of animals studied.
(*), Significantly different from the values of the survived group on the same side.

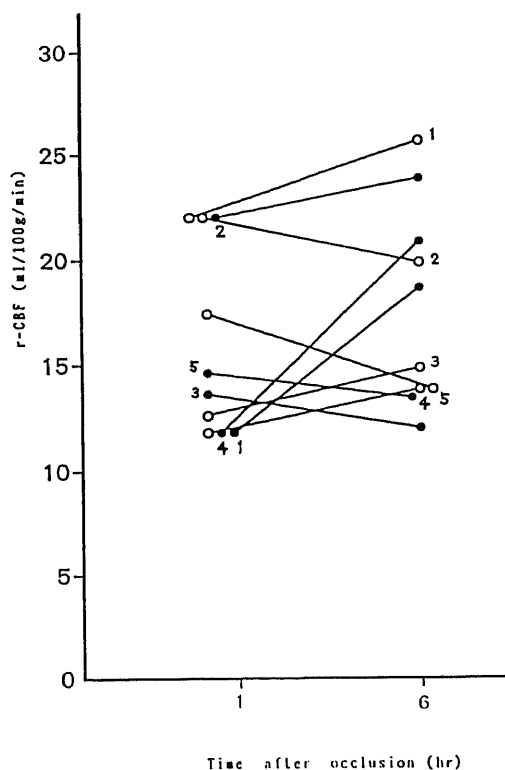


Fig. 7. Individual r-CBF values of the survived group within 1 hr and at 6 hr after left common carotid artery occlusion in both the occluded and the contralateral side. Each figures beside the black dots, which distinguish each animals of the occluded side at 1 hr correspond to those by the white dots of the contralateral side at 6 hr. ●, occluded side; ○, contralateral side.

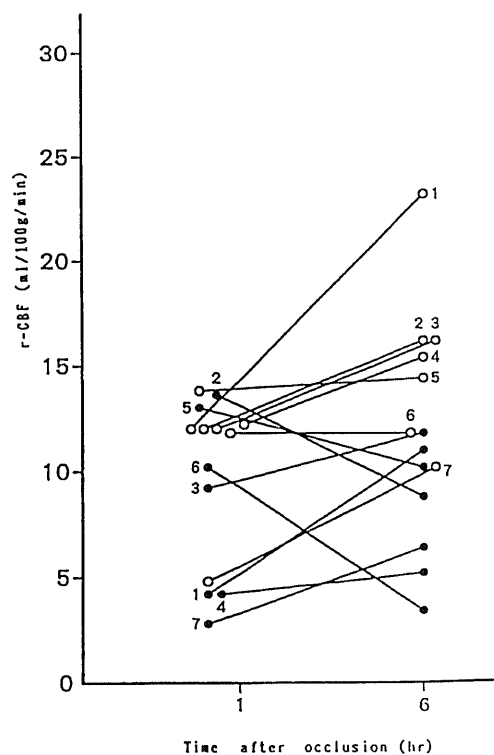


Fig. 8. Individual r-CBF values of the fatal group within 1 hr and at 6 hr after left common carotid artery occlusion in both the occluded and the contralateral side. Each figures beside the black dots, which distinguish each animals of the occluded side at 1 hr correspond to those by the white dots of the contralateral side at 6 hr. ●, occluded side; ○, contralateral side.

全体として $11.8 \sim 23.6$ ml を示した。対側では、1 時間値は $11.8 \sim 21.8$ ml を示し、6 時間値は 3 匹では $2 \sim 4$ ml 増加し 2 匹では $2 \sim 4$ ml の減少を示し全体として $13.8 \sim 25.6$ ml を示した。

図 8 は致死群 7 例の r-CBF の経過を示す。結紮側の 1 時間値は $2.9 \sim 13.8$ ml でありそのうちの 5 匹が 10.2 ml 以下であり、6 時間値は $3.6 \sim 11.8$ ml であったが、そのうち 4 匹において $1 \sim 6$ ml の増加を示し 3 匹において $2 \sim 7$ ml の減少を示した。対側の 1 時間値は $4.9 \sim 13.8$ ml でありそのうちの 6 匹は $11.8 \sim 13.8$ ml であり、6 時間値では 7 匹がいずれも $0 \sim 12$ ml の増加を示し全体として $10.3 \sim 23.2$ ml となり減少したものはなかった。

図 9 および図 10 は、生存群および致死群の上述の血流の経時的変化を、結紮側および対側に分けてコントロール値と比較し統計学的検討をしたものである。生存群においては、結紮側の r-CBF の結紮後 1 時間以内の値は 12.34 ± 1.35 ml と、コントロール値 (19.76 ± 1.37 ml) と比べて有意に減少したが、6 時間の値は 17.71 ± 2.17 ml に回復した。対側では、1 時間以内お

よび 6 時間後の値はそれぞれ 16.58 ± 1.55 ml、および 17.54 ± 2.30 ml であった。これに対し、致死群の r-CBF は、結紮側で結紮 1 時間以内の値は 9.19 ± 1.72 ml、6 時間では 8.16 ± 1.18 ml であった。対側では、1 時間以内の値は 11.72 ± 1.11 ml であり、上記 3 者はコントロール値と比べていずれも有意に減少した。しかし、対側の 6 時間後の値は 15.32 ± 1.58 ml であり r-CBF は回復の傾向を示した。

上述の結果より、生存群と、致死群を分ける最も重要なものは、後者における結紮側の血流低下の持続であり、その臨界値は、 $10 \sim 11$ ml であった。更に後者の特徴としてより顕著なものは、対側において後に回復するにも拘らず、1 時間以内に著明な脳血流低下を示すことであった。

考 察

脳梗塞発症後における臨床的病態と、脳循環動態との相関をみた実験的研究は、臨床症状を反映させるに足る適当な動物の虚血モデルの作製に困難が認められてきた¹⁾。殊にネコおよびイヌでは、脳の頸動脈系支配

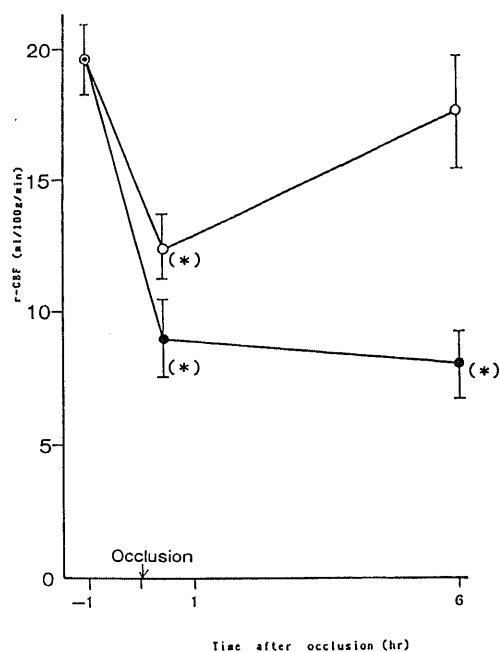


Fig. 9. r-CBF values in the occluded hemisphere for the survived and the fatal groups. There is a significant reduction of r-CBF values of both the fatal and the survived group in the occluded hemisphere within 1 hr after left common carotid artery occlusion. (*), $p < 0.05$. ○, survived group; ●, fatal group; —●—, mean \pm S.E.

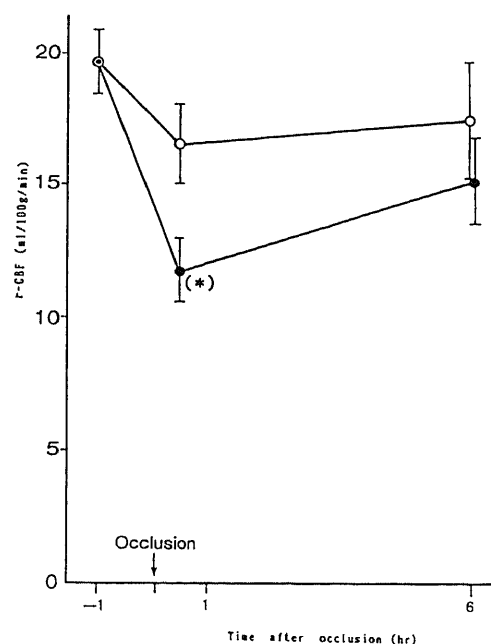


Fig. 10. The r-CBF values in the contralateral hemisphere for the survived and the fatal groups. There is a significant reduction of r-CBF values of only the fatal group in the contralateral hemisphere within 1 hr after occlusion. There is no significant change in r-CBF values in the survived group. (*), $p < 0.05$. ○, survived group; ●, fatal group; —●—, mean \pm S.E.

は外頸動脈支配が優位であり、ヒトと著しく趣を異にし脳梗塞の作製には煩雑な作業を必要とするとされてきた²⁾。

Levine と Payan³⁾は、1966 年初めて大脳動脈輪形成不全を特徴とする砂ネズミの一侧総頸動脈結紮によって、同側大脳半球に梗塞病変が発生することを報告し、この動物は、虚血モデルの作製にきわめて貴重なものであることを指摘した。更に Levine と Sohn¹⁰⁾ならびに Levy と Brierley¹¹⁾は、この動物は、脳底動脈系と頸動脈系の交通枝を欠くために、このような梗塞病変をおこしやすいとした。Kahn¹²⁾は、一侧総頸動脈結紮後、砂ネズミの 53%は、5 日以内に死亡しこれらの動物は、異常旋回行動、回転性痙攣、眼瞼下垂などの症状をあらわしたと報告した。Ito¹³⁾、Nakai¹⁴⁾、Harrison¹⁵⁾、Schonfeld¹⁶⁾らは、砂ネズミの一侧総頸動脈の永久結紮による致死率は、ほぼ 30~60%の範囲と報告した。

本研究においては、砂ネズミの左総頸動脈結紮施行後、40 匹中 19 匹が、8~56 時間後に死亡し(致死率 47.5%)他の 21 匹はすべてが生じた。梗塞症状はいずれも、一侧総頸動脈結紮後約 1 時間の、麻酔から覚醒する時期に認められた。総頸動脈結紮後の虚血症状を、McGraw⁹⁾の方法を修飾して、Stroke Index (S.I.: 体毛の逆立ちや振戦, 1; 攻撃反応の消失, 1; 運動減少, 1; 頭部の挙上, 3; 閉眼不能, 3; 眼瞼下垂, 2; 後脚の伸展, 3; 後脚の極度の回転, 3; 異常回旋運動, 3; 痙攣, 2; 回転性痙攣, 3; 昏睡様現象, 6; 総計 31)を作成して評価すると、虚血症状を全く認めなかったのは 40 匹中ただ 1 匹のみであり、残りについては何らかの症状を呈した。明瞭に分けうる結果は生存、あるいは死であり、早期にみられる S.I. の臨界値は 10 であった。1 時間値が 10 未満のものではすみやかに S.I. が減少の経過をとり、概ね 4 時間以内に 2 ないし 3 となり最後まで残るのは、眼瞼下垂であった。これに対し、結紮 1 時間値が 10 以上のものでは、全例で眼瞼下垂のほか、運動減少、閉眼不能、後脚の伸展、異常回旋および回転運動、痙攣、攻撃反応の消失などの症状が発生し、概ね 4 時間では S.I. は 20 以上となり、8~56 時間で死亡の転帰をとった。

Aukland ら⁴⁾は、水素ガスクリアランス法を用いて、イヌの腎、心筋、骨格筋の局所血流量を測定した。本法は、装置が比較的簡単であること、局所血流量を絶対値として容易に算出できること、複数の箇所にて同時に測定が可能であること、などの長所を持つ。Fieschi ら¹⁷⁾はネコを用い、Pasztor ら¹⁸⁾はヒヒを用いて本方法による r-CBF の測定を行ない、その有用性を主張した。Crockard ら¹⁹⁾は同じ水素ガス吸入法を用

い、体重 1.0 kg 当り 60 mg のペントバルビタールで麻酔した砂ネズミの冠状縫合の前後の皮質の r-CBF は、 29.5 ± 4.5 ml/100 g/min と報告した。Kelly ら²⁰⁾は吸入法を用い、ガラミンで非動化した砂ネズミの皮質の r-CBF を 36 ml/100 g/min と報告した。本実験では、体重 100 g 当り 3.0 mg のペントバルビタール麻酔下で、吸入法を用いた、冠状縫合の前後の皮質の r-CBF は、 20.62 ± 0.95 ml/100 g/min であった。同じ水素ガス吸入法を用いてもこのような差異が生じるのは、実験の手法の違い、麻酔量や麻酔法の選択の差異によることも考えられるが、本実験の場合、上述の報告より小さい r-CBF の値が得られた原因は、明らかでない。

ネズミあるいはマウスの様な小動物の場合は、水素ガスを吸入させると容易に低酸素血症を来し動脈血の pCO₂、pO₂ などに大きな変化を来す。一方、虚血脳の実験においては、病巣部位に水素ガスを飽和させるにはより長い時間を要する。従って、砂ネズミのような小さな動物を用いた虚血脳の実験では、水素ガス吸入による r-CBF 値の評価は、困難である。

Stossek ら⁶⁾は、水素吸入式クリアランス法の変法として、生体内において近接した 2 個の電極間に微小直流電流を通電することにより、陰極に水素ガスを発生させ、これによりネコの大脳皮質の r-CBF を求めこれを報告した。更に Koshu ら⁷⁾はこの方法を改良し、イヌの大脳深部白質の r-CBF を測定し、従来の吸入法による値と有意の相関を示し(相関係数 $r=0.9398$, $p<0.01$)吸入法に近い値を得ることに成功した。この方法は、ガス吸入による生体への影響がないこと、および測定に要する時間が少なく頻回な検索が可能である点などの利点があげられる。

一方、針状の電極を用いて行なう脳血流測定においては、電極刺入ならびに通電による、脳組織の損傷は無視できないとする意見もある。しかし Heiss²¹⁾および落合ら²²⁾は、直径 300 μ 程度の電極を、慢性実験で組織に植えこんだとしても、データ上変化はないと主張した。本実験では体重 100 g 当り 3.0 mg のペントバルビタールの麻酔下で、砂ネズミの冠状縫合の前後の皮質の r-CBF は電気分解法で、 19.76 ± 1.37 ml/100 g/min であり、この動物の脳の同一部位において、従来の水素吸入法による r-CBF の値と電気分解法による値の相関係数は $r=0.769$ ($p<0.01$)であるが、これは有意の相関といえる。本実験が得た相関係数が 1.0 とならなかったことは、測定部位が砂ネズミ皮質表面であること、また動物が小さいことによるガス分圧の微妙な変化、あるいは電気分解法における拡散のみによる値を差引く操作等によるものと考えられる。隅

屋²³⁾は、 ^{125}I と ^3H を用いた二重標識オートラジオグラフィによりラットのr-CBFを皮質、及び皮質下の基底核及び脳幹で測定し、大脳皮質表面の血流は上述の皮質下や脳幹の部位より低い値を示すことを認めた。r-CBFは測定方法及び部位によって、数値にかなりの差を示す。本実験に用いられた電気分解による方法は、r-CBFの絶対値の評価には問題を残すが、症状との比較検討には有用といえる。

Waltz¹⁾は、人の局所脳血流の正常値が50 ml/100 g/minでありその40%、20 ml以下になると脳梗塞の症状ならびに脳波異常がみとめられると述べている。Nakaiら¹⁴⁾は、30匹の砂ネズミを用いて、一側総頸動脈結紮後何らかの虚血症状が出現した18匹では、結紮側の海馬近傍のr-CBFがコントロールの約50%以下となるが、残りの無症状群では変化を認めないとした。一方、対側のr-CBFは症状群、無症状群のいずれにも変化を認めなかった。Crockardら¹⁹⁾は、深麻酔下の砂ネズミの一側総頸動脈結紮後、結紮側のr-CBFはコントロールの43%に減少し、対側では42%~122%に及ぶ変化に富む値をとると報告した。しかし、これらの研究で得られたr-CBFの値は経時的な測定値ではなく慢性期のものである。

本研究のコントロール実験では、大脳皮質のr-CBFは電気分解法で、 19.76 ± 1.37 ml/100 g/minであった。結紮側1時間値は、生存群ではコントロール値の約62% (12.34 ± 1.35 ml)であり、致死群では約46% (9.19 ± 1.72 ml)を示し、両者を分ける臨界値は51~56% (10~11 ml)であった。また結紮側の6時間値は、生存群では著しく上昇するのに対し致死群では更に低下の傾向を示した。

対側における生存群のr-CBF 1時間値はコントロール値の84% (16.58 ± 1.55 ml)であり有意の減少とは考えられず、6時間値では更に回復の傾向を示した。しかし致死群では1時間値はコントロール値の59% (11.72 ± 1.11 ml)と有意に減少し、6時間値ではやや回復するが生存群の場合よりも低値であった。

以上の結果より本実験における致死群の特徴として、結紮側の血流は早期において既に臨界値以下となり、逐次低下の傾向を認めた。この群では更に、対側においても早期に著明な血流減少がありその後の経過において血流が増加の傾向を示すにかかわらず致命的な予後に影響を及ぼさなかった。これに対し、生存群では、r-CBFは結紮側においては早期の減少の程度は少なく、その後増加の傾向を示し、対側においては早期より血流の著しい低下を認めなかった。

脳梗塞症例において、患側のみならず対側半球でもr-CBFの低下を認める現象が、文献上幾つか報告され

ている。Waltzら²⁴⁾は、Krypton 85溶解液を大動脈内に注入しそのクリアランスカーブからr-CBFを求める方法を猫とリスに用い、一側中大脳動脈を閉塞した場合、10分~150分後の大脳半球r-CBFは7匹のうち4匹の動物において、閉塞側のみならず対側半球でも低下していることを認めた。Revichら²⁵⁾は、水素クリアランス法を猫に用い、一側中大脳動脈閉塞後30分毎のr-CBFは閉塞側のみならず対側でも次第に低下することを認め、彼らはこれを経神経的(trans-neuronal)な血流動態と代謝の変動であり、“diaschisis”の現象によるものと主張した。“diaschisis”は、1914年 von Monakowによって初めて提唱され、脳の障害された部位から離れた部位における経神経的な一時的な活動低下と解されている²⁶⁾。Høedt-Rasmussenら²⁷⁾は、Krypton 85溶液の頸動脈内注射により脳障害患者にr-CBF測定を行ない、大脳半球の梗塞や腫瘍では患側のみならず対側もコントロール値の半分以下に減少し、脳幹腫瘍や脳幹外傷でも両側の半球の血流が低下することを報告した。彼らは、半球障害にみられた対側半球の血流の低下は、脳幹を介した経神経的な機構によるものと主張した。J. S. Meyerら²⁹⁾は、水素ガス飽和溶液の頸動脈内注射による脳血流測定を脳梗塞患者に適応し、半球の梗塞では急性期には両側半球の血流低下を認め、その2~3週後には対側半球血流は発作前に復帰しているのに対し、患側半球血流は減少したままであることをも認めた。また、脳幹梗塞では急性期から慢性期を通して両側半球の血流低下を認めた。その結果より彼らは、大脳半球の血流のdiaschisis現象を証明するものと主張した。

これに対しMorawitzら²⁹⁾は、吸入式水素クリアランス法をサルに用い、一側中大脳動脈結紮後の両側大脳半球の脳血流を測定し、結紮側は結紮前に比べて有意に減少したが対側はむしろ上昇し、diaschisisの現象は認められない、と報告した。

本実験では、砂ネズミの一側総頸動脈結紮後致命的な予後を辿った致死群の顕著な所見として、急性期には結紮側半球のみならず対側のr-CBFの減少を認め、その後の経過において同側の血流は低下かあるいは同じレベルを保つにかかわらず対側の血流は回復してきたが、この事は結紮直後の対側のr-CBFの低下はdiaschisisであり、時間の経過と共に解除に向う事を示すものと考えられる。

砂ネズミの一側総頸動脈結紮後、生と死を分けた原因として前者は後者に比して、両側半球間の吻合枝が多かったためということも考えられる。Harrisonら¹⁵⁾は、砂ネズミの一側総頸動脈結紮による梗塞病変は後交通動脈の欠如に加えて、前大脳動脈における左右吻

合枝（前交通枝）の形成異常によっても、もたらされることを報告した。堀添ら³⁰⁾は、269匹の砂ネズミの脳底部血管走行を、心室よりエバンスブルーを注入することにより検索し、全動物が後交通動脈を欠くことを認めた。更に、120匹において一側総頸動脈結紮を行ない、脳梗塞を発症し死亡した動物は55%であり、その全例に明確な前交通枝を欠き、生存したものは全例が前交通枝をそなえていたことを報告した。本実験における致死群では結紮直後において同側のr-CBFが皆無にならぬことは、ある程度の吻合による対側あるいは脳底動脈からの供給が存在することを示す。但しその値は、臨界点以下でありしかも回復の傾向は殆どない。

砂ネズミの一側総頸動脈結紮後みられた眼瞼下垂や痙攣、回旋運動、振戦などの症状はむしろ脳幹病変と考えられる。Ohnoら³¹⁾は、³H-nicotineを用いオートラジオグラフィにより一側総頸動脈結紮後の砂ネズミのr-CBF測定を行ない、これらの虚血性脳幹症状を認めた群では結紮側r-CBFは皮質、海馬ではコントロール値の10%以下、間脳では22%以下に減少し、対側でも各々有意に減少することを認めた。従ってこの動物の両側皮質の脳血流低下は、脳幹の血流低下を伴うものであるといえる。これらの事実より、致死群では前大脳動脈の不全のため、結紮後同側の臨界点以下の血流低下があり、対側diaschisisによる血流低下を来とし両側の血流低下が相乗して脳幹の血流低下を来とし、この状態がある時間以上続く場合はその後血流の回復を来しても、致命的な経過をとると思われる。

Kahn³²⁾及びMcGrawら³³⁾は、砂ネズミに一側総頸動脈結紮後1時間の時点より大量のステロイドを投与したが、脳梗塞の発生、及び死亡率の減少に対して無効であった。一方Harrisonら¹⁵⁾は、この動物の一側総頸動脈結紮直後にステロイドを投与することにより、脳梗塞による脳腫脹を軽快させ死亡率を減少できたと報告した。以上のことより、砂ネズミの一側総頸動脈結紮後1時間以内の急性期に、脳腫脹を減少させ脳血流を上げるにより、この動物の脳梗塞による死亡を減少させる可能性が示唆される。

McGraw⁹⁾は、砂ネズミの一側総頸動脈結紮時の麻酔及びその後の治療として、ペントバルビタールを投与することにより、脳梗塞の発生を減少させたと報告した。Lightfooteら³⁴⁾は、砂ネズミの一側総頸動脈結紮時の麻酔として、ペントバルビタールあるいはケタラルを投与前者の方が脳梗塞発生が有意に少ないことを認めた。このように、バルビツレイトが、急性期脳虚血に対し生存期間の延長や脳梗塞の症状を軽減させる効果を持ち、脳保護作用を持つ機序とし

て^{35)~37)}、①脳代謝を下げ、酸素消費量を抑制する、②頭蓋内圧の低下作用、③reverse steal現象、即ち正常脳の脳血管収縮により、虚血部位の脳灌流圧の上昇、④free radicalのscavenger作用、などが挙げられている。前述のMcGraw⁹⁾や、Lightfooteら³⁴⁾の実験において頸動脈結紮砂ネズミの死亡率を下げたのは、この物質の投与により、砂ネズミの脳代謝が下がり、酸素消費量が抑制され、脳灌流圧が上昇して、脳梗塞発現の閾値が高まったことによると考えられる。

結 論

砂ネズミ一側総頸動脈結紮により脳虚血モデルを作製し、両側大脳半球皮質の局所脳血流及び虚血症状の経時的変化、両者の経時的な関連を観察、検討した。また局所脳血流量測定法として、電気分解式水素クリアランス法の特徴を水素吸入式クリアランス法と比較検討した。

1. 砂ネズミの皮質局所脳血流量測定において、電気分解式水素クリアランス法は従来の水素吸入式クリアランス法と絶対値が近似し両者はよく相関した。従って電気分解式水素クリアランス法は小動物の虚血巣の脳血流量測定に適する測定法であると考えられた。

2. 一側総頸動脈結紮後1時間以内に、砂ネズミの約47.5%は致死的な脳梗塞を発症した。

3. 電気分解式水素クリアランス法による、体重100g当り3.0mgのペントバルビタール麻酔下の砂ネズミの、冠状縫合に接した前後のr-CBFは 19.76 ± 1.37 ml/100 g/min (mean \pm S.E.)であった。

4. 一側総頸動脈結紮後、死亡した砂ネズミでは、結紮側における血流低下の持続と共に対側において、後に回復するにも拘らず1時間以内に著明な脳血流低下を認めた。すなわち、脳梗塞急性期において一側半球が重篤な脳虚血に陥ると、一過性ながら対側半球にも虚血現象が生じ、致命的な経過をとるものと推定された。

謝 辞

稿を終えるに臨み終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師山本信二郎教授に深甚なる謝意を捧げます。また御指導、御助言を賜りました藤井博之講師、本学第一生理学教室永坂鉄夫教授に深謝致します。本研究の遂行にあたり、御協力を戴きました医学部工作係文部技官、田畑繁之氏に厚く御礼申し上げます。

なお、本研究の一部は第23回日本神経学会総会（東京、1982年）にて発表した。

文 献

- 1) Walt, A. G.: Clinical relevance of models of cerebral ischemia. *Stroke*, **10**, 211-213 (1979).
- 2) 吉本高志, 坂本哲也, 鈴木二郎: 実験的脳梗塞 (第1報) 視床梗塞モデル犬の作製. *脳神経外科*, **6**, 355-359 (1978).
- 3) Levine, S. & Payan, H.: Effects of ischemia and other procedures in the brain and retina of the gerbil. *Exp. Neurology*, **16**, 255-262 (1966).
- 4) Aukland, K., Bower, B. F. & Berliner, R. W.: Measurement of local blood flow with hydrogen gas. *Circulation Research*, **14**, 164-187 (1964).
- 5) 田村 晃, 浅野孝雄, 卓 允佑, 間中 信也, 平川 公義, 佐野圭司: 水素クリアランス法による脳局所血流量の測定. *脳と神*, **30**, 47-54 (1978).
- 6) Stossek, K., Luebbbers, D. W. & Cottin, N.: Determination of local blood flow (microflow) by electrochemically generated hydrogen. *Pfluegers Arch.*, **348**, 225-238 (1974).
- 7) Koshu, K., Kamiyama, K., Oka, N., Endo, S., Takaku, H. & Saito, T.: Measurement of regional blood flow using hydrogen gas generated by electrolysis. *Stroke*, **13**, 483-487 (1982).
- 8) 篠田耕三: 電気分解式水素クリアランス法による骨髄内局所血流量の測定. *十全医会誌*, **94**, 678-688 (1985).
- 9) McGraw, C. P.: Experimental cerebral infarction. Effect of pentobarbital in mongolian gerbil. *Arch. Neurol.*, **34**, 334-336 (1977).
- 10) Levine, S. & Sohn, D.: Cerebral ischemia in infants and adult gerbils. *Arch. Path.*, **87**, 315-317 (1969).
- 11) Levy, D. E. & Brierley, J. B.: Communications between vertebro-basilar and carotid arterial circulations in the gerbil. *Exp. Neurology*, **45**, 503-508 (1974).
- 12) Kahn, K.: The natural course of experimental cerebral infarction in the gerbil. *Neurology*, **22**, 510-515 (1972).
- 13) Ito, U., Spatz, M., Walker, J. T. Jr. & Klatzo, I.: Experimental cerebral ischemia in mongolian gerbils -light microscopic observation. *Acta. Neuropath.*, **32**, 209-233 (1975).
- 14) Nakai, K., Welch, K. M. A. & Meyer, J. S.: Critical cerebral blood flow for production of hemiparesis after unilateral carotid occlusion in the gerbil. *J. Neurol. Neurosurg. Psy.*, **40**, 595-599 (1977).
- 15) Harrison, M. J. G., Brownhill, D., Lewis, P. D. & Russel, R. W. R.: Cerebral edema following carotid artery ligation in the gerbil. *Arch. Neurol.*, **28**, 389-391 (1973).
- 16) Schonfeld, A. R. & Glick, S. T.: Cerebrovascular abnormalities associated with seizures susceptibility in the mongolian gerbil. *Brain Research*, **173**, 147-151 (1979).
- 17) Fieschi, C., Bozzao, L. & Agnoli, A.: Regional clearance of hydrogen as a measure of cerebral blood flow. *Acta. Neurol. Scand.*, **41** (Suppl. 14), 46-52 (1965).
- 18) Pasztor, E., Symon, L., Dorsch, N. W. C. & Branston, N. M.: The hydrogen clearance method in assessment of blood flow in cortex, white matter and deep nuclei of baboons. *Stroke*, **4**, 556-567 (1973).
- 19) Crockard, A., Iannotti, F., Hunstock, A. T., Smith, R. D., Harris, R. J. & Symon, L.: Cerebral blood flow and edema following carotid occlusion in the gerbils. *Stroke*, **11**, 494-498 (1980).
- 20) Kelly, R. A. & Halsey, J. H. Jr.: Comparison of CBF and O₂ availability at the same locus in the ischemic gerbil brain. *Stroke*, **7**, 274-278 (1976).
- 21) Heiss, W. D.: What method to choose for quantification of cerebral blood flow in experimental research. *Stroke*, **12**, 555-557 (1981).
- 22) 落合慈之, 浅野孝雄: 局所脳虚血における循環動態の変化. *脳と神*, **32**, 1263-1274 (1980).
- 23) 隅屋 寿: ラット脳における N-isopropyl-p-[¹²⁵I] iodoamphetamine と ³H-deoxyglucose を用いた定量的二重標識オートラジオグラフィに関する研究. *十全医会誌*, **96**, 321-337 (1987).
- 24) Waltz, A. G., Sund, T. M. & Owen, C. A.: Effect of middle cerebral artery occlusion on cortical blood flow in animals. *Neurology*, **16**, 1185-1190 (1966).
- 25) Revich, M., Jones, S., Castano, T., Crowe, W., Ginsberg, M. & Greenberg, J.: A model of diaschisis in the cat using middle cerebral artery occlusion. *Acta. Neurol. Scand.*, **56** (Suppl. 64), 242-243 (1977).
- 26) von Monakow, C.: Die Lokalisation im Grosshirn und der Abbau der Funktion durch kortikale Herde. *J. F. Bergmann*, Wiesbaden, 1914. — Arieuns kappers, C. V., Huber, G. C. &

Crosby, E. C., : The Comparative Anatomy of the Nervous System of Vertebrates, Including Man. 1st ed., p 1656-1657 Macmillan, New York, 1936.

27) Høedt-Rasmussen, K. & Skinøj, E. : Transneuronal depression of the cerebral hemispheric metabolism in man. *Acta. Neurol. Scand.*, **40**, 41-46 (1964).

28) Meyer, J. S., Shinohara, Y., Kanda, T., Fukuuchi, Y., Ericsson, A. D. & Kok, N. : Diaschisis resulting from acute unilateral cerebral infarction. *Arch. Neurol.*, **23**, 241-247 (1970).

29) Morawitz, R. B., DeGirolami, U., Ojemann, R. G., Marcoux, F. W. & Crowell, R. M. : Cerebral blood flow determined by hydrogen clearance during middle cerebral artery occlusion in unanesthetized monkeys. *Stroke*, **9**, 143-149 (1978).

30) 堀添 宏, 福田武美, 田村 晃 : Mongolian gerbilの脳底部血管走行と脳梗塞. *脳と神*, **33**, 825-831 (1981).

31) Ohno, K., Ito, U. & Inaba, Y. : Regional cerebral blood flow and stroke index after left carotid ligation in the conscious gerbil. *Brain Research*, **297**, 151-157 (1984).

32) Kahn, K., Largo, F., Pranzarone, G. F. & Newman, T. : Dexamethasone treatment of experimental cerebral infarction. *Neurology*, **22**, 406-407 (1972).

33) McGraw, C. P., Fleming, F. & Spruil, J. H. : Effect of methylpredonisolone on experimental cerebral infarction in the mongolian gerbil. *Stroke*, **5**, 444-446 (1974).

34) Lightfoote, W. E., Molinari, G. F. & Chase, T. N. : Modification of cerebral ischemic damage by anesthetics. *Stroke*, **8**, 627-628 (1977).

35) Flamm, E. S., Domonopoulos, H. B., Seligman, M. L. & Ransohoff, J. : Possible mechanisms of barbiturate-mediated protection in regional cerebral ischemia. *Acta. Neurol. Scand.*, **56** (Suppl. 64), 150-151 (1977).

36) Smith, A. L., Hoff, J. T., Nielsen, S. L. & Larson, C. P. : Barbiturate protection in acute focal cerebral ischemia. *Stroke*, **5**, 1-7 (1974).

37) Steen, P. A. & Michenfelder, J. D. : Mechanisms of barbiturate protection. *Anesthesiology*, **53**, 183-185 (1980).

Cerebral Blood Flow and Signs of Ischemia Following Carotid Occlusion in the Gerbil
Kazuhiko Yoshida, Department of Neurosurgery, School of Medicine, Kanazawa University,
Kanazawa 920—J. Jusen Med. Soc., **96**, 919—931 (1987)

Key words : r-CBF, Mongolian Gerbil, cerebral infarction, diaschisis, electrolytic hydrogen clearance method

Abstract

This study was performed to observe the effect of unilateral common carotid artery (CCA) occlusion on the regional cerebral blood flow (r-CBF) in the Mongolian Gerbil. This animal is highly susceptible to cerebral ischemia because of inefficient anastomosis between basilar and carotid systems. Observations were made on the consecutive change of the r-CBF of bilateral hemispheres and the evaluation of signs of ischemia. The r-CBF was determined using the electrolytic hydrogen clearance method under pentobarbital anesthesia. The value of r-CBF of the cerebral cortex before and behind the coronal suture was $19.76 \pm 1.37 \text{ ml/100g/min}$ (mean \pm S.E., $n=10$) in control experiments. Each sign of ischemia was assigned a numerical weight, which was used in calculating Stroke Index (S.I., 0~31) overall and at each evaluation. Among forty gerbils after CCA occlusion, 21 animals had an S.I. score less than 10 within 1 hr. and survived during the experiment (survivor group, S. G.). The remaining 19 animals with S.I. score greater than 10 exhibited marked ischemic signs and died during the period from 8 to 56 hr after occlusion (fatal group, F. G.). The r-CBF of S.G. on the occluded side was $12.34 \pm 1.35 \text{ ml}$ within 1 hr after CCA occlusion and $17.71 \pm 2.17 \text{ ml}$ at 6 hr, and on the contralateral side, the former was $16.58 \pm 1.55 \text{ ml}$ and the latter was $17.54 \pm 2.30 \text{ ml}$. The r-CBF of F. G. on the occluded side was $9.19 \pm 1.72 \text{ ml}$ within 1 hr after CCA occlusion and $8.16 \pm 1.18 \text{ ml}$ at 6 hr, and on the contralateral side, the former was $12.72 \pm 1.11 \text{ ml}$ and the latter was $15.32 \pm 1.58 \text{ ml}$. The most interesting finding in this study was that gerbils in F. G. manifested a significant decrease in r-CBF within 1 hr after occlusion on the contralateral side as well as a progressing decrease on the occluded side, although they developed a recovery of blood flow on the contralateral side in the later phase. Therefore, the present study presumably indicates a phenomenon that the marked reduction in blood flow in the hemisphere contralateral to the ischemic insult was caused via brainstem at an early stage of cerebral infarction. The bilateral reduction of the blood flow, if it continues beyond the critical time, produces the whole depression of neuronal function and brainstem death.